

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol*) merupakan tanaman buah (Lamoureux, 1980) yang menjadi salah satu tanaman identik dari Daerah Istimewa Yogyakarta (Haryjanto, 2012). Tanaman buah Kepel menyerupai kepalan tangan yang bermakna sebagai lambang kesatuan dan keutuhan mental dan fisik. Tanaman Kepel termasuk dalam Daftar Tanaman Langka dikarenakan sulit untuk ditemukan (Mogea *et al.*, 2001; Fachrurozi, 1980). Menurut Haryjanto (2012), kelangkaan tanaman Kepel masuk dalam kategori CD (*Conservation Dependent*) yang berarti keberadaannya sulit ditemui karena telah langka (*rare*) dan jika tidak dilakukan kegiatan konservasi maka statusnya menjadi rawan (*vulnerable*). Faktor - faktor yang menyebabkan tanaman Kepel menjadi langka di DIY dikarenakan terbentuknya opini bahwa tanaman ini hanya boleh ditanam di sekitar keraton, sehingga muncul ketidak inginan masyarakat untuk membudidayakan tanaman ini. Dengan adanya upaya konservasi, terdapat beberapa lokasi yang menjadi penyebaran tanaman Kepel di Yogyakarta. Diantaranya ialah di Kota Yogyakarta (Taman sari), Kabupaten Bantul (Ambarbinangun) dan Kabupaten Sleman (Gamping).

Tanaman buah Kepel memiliki fungsi sebagai *hepatoprotektif* yang memberikan perlindungan terhadap fungsi hati. Kandungan tersebut terdapat pada daging buah Kepel sehingga dapat mengembalikan kinerja produksi enzim dalam hati serta membantu melakukan regenerasi sel terhadap hati yang mengalami kerusakan. Kepel memiliki kandungan *flavonoidnya* yang tergolong lengkap dengan kadar berupa alkaloid, fenolik, dan quercetin yang tinggi. Antioksidan pada Kepel terbukti tidak mengganggu fungsi ginjal, melainkan justru membantu mempercepat proses regenerasi sel ginjal dan menghambat kerusakan pada sel ginjal (Sunarni, 2007).

Permasalahan yang ada adalah minimnya informasi dan penelitian tentang tanaman kepel, sehingga perlu adanya upaya untuk melestarikan tanaman tersebut baik dari segi fenotipe maupun genotipe. Adapun upaya pelestarian genotipe salah satunya dilakukan pemuliaan tanaman berupa pengisolasian DNA agar dapat

menganalisis molekuler pada tanaman kepel. Menurut Haryjanto (2012) langkah-langkah konservasi genetik yang dapat dilakukan pada tanaman kepel adalah dengan melalui studi keragaman genetik, eksplorasi, konservasi genetik secara *ex situ*, karakterisasi dan evaluasi. Perkembangan ilmu bioteknologi melalui teknik-teknik molekuler, maka usaha untuk mendapatkan informasi genetik akan lebih mudah dilakukan dan akan memperoleh hasil yang lebih akurat. Analisis molekuler tumbuhan tergantung pada jumlah dan kemurnian sampel DNA (Pharmawati, 2009). Verkuil *et al.* (2008) menyatakan bahwa penyimpanan pada suhu tertentu bertujuan agar sampel DNA yang telah diekstraksi dapat disimpan hingga waktu berminggu-minggu. Keberhasilan dalam isolasi DNA dapat dilihat dari hasil kualitas dan kuantitas DNA yang tinggi. Hal tersebut dapat diusahakan dengan cara mengoptimalkan DNA yang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya berat sampel dan lama inkubasi.

Handayani (2008) menyatakan bahwa macam dan berat sampel yang digunakan dalam isolasi DNA pada tanaman Anggrek dapat menghasilkan konsentrasi DNA yang nyata berbeda. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Langga, *et al.*, (2012), pada perlakuan inkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit memaksimalkan keluarnya DNA dari sel dan mendegradasi protein dari dinding sel secara optimal dibandingkan dengan perlakuan inkubasi lain sehingga menghasilkan tingkat kemurnian yang cukup tinggi yaitu 1,78. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2008), menunjukkan bahwa pengaruh berat sampel 0,1 gram dan 0,3 gram menunjukkan masih adanya *smear* dibawah fragmen DNA. Hal ini menunjukkan bahwa DNA yang dihasilkan terpotong – potong menjadi fragmen kecil sehingga ketika dilakukan analisis elektroforetik pada gel Agarose 0,8 % terdapat banyak *smear*. Pada daun *seedling* 0,1 gram menunjukkan adanya intensitas warna yang tinggi pada bagian bawah Agarose, walaupun DNA yang dihasilkan dari hasil spektrofotometri sudah cukup murni. Selain itu, untuk mendapatkan keoptimalan dalam pengisolasian DNA, terdapat beberapa faktor yang akan mempengaruhi proses tersebut, yaitu : (1) teknik isolasi yang digunakan, (2) jenis tanaman, (3) jenis eksplan, (4) umur eksplan, (5) jumlah/berat eksplan yang diekstrak, (6) formulasi kemikalia, dan (7) alat yang digunakan.

Faktor umur eksplan pada isolasi DNA tanaman kepel digolongkan menjadi daun tua dan daun muda. Daun tua memiliki stuktur daun yang tebal sedangkan daun muda memiliki struktur daun yang tipis. Menurut Ferniah (2013), penggunaan sampel dengan ketebalan yang tipis, tidak kaku, akan mempermudah untuk mendapatkan DNA, sehingga apabila menggunakan sampel yang memiliki ketebalan yang tinggi mengakibatkan sel –sel daun tidak lisis secara sempurna. Penggunaan sampel daun muda pada proses pengisolasian DNA kepel didukung dari hasil penelitian Akbar, (2018) menunjukkan hasil konsentrasi dan kemurnian yang tinggi dibandingkan dengan sampel daun tua dan daun muda merah.

Isolasi DNA tanaman kepel menggunakan *buffer* CTAB (*cethyltrimethyl ammonium bromide*) yang memiliki keakuratan tinggi karena mampu memisahkan DNA dari polisakarida dan senyawa polifenol (Varela-Alvarez *et al.*, 2006). Keberhasilan metode ini bergantung pada komposisi bufer CTAB yang digunakan. Penggunaan dari metode ini merupakan penyempurnaan dari hasil isolasi daun kepel dengan menggunakan metode Kit A 1120. Berdasarkan hasil penelitian Akbar, (2018) menunjukkan bahwa hasil isolasi DNA dengan menggunakan metode Kit pada sampel daun muda Kepel memiliki konsentrasi DNA sebesar 108,49 dan kemurnian DNA sebesar 1,53.

Penelitian ini bertujuan untuk : (1) Mendapatkan metode isolasi yang optimum (2) Mendapatkan berat sampel dan, (3) Mendapatkan lama inkubasi yang menghasilkan DNA hasil isolasi terbaik pada daun muda dan tua tanaman Kepel dari berbagai lokasi di Yogyakarta. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dasar serta menyempurnakan metode tentang pengisolasian DNA genom tanaman Kepel *Stelechocarpus burahol (BL) Hook.f dan Th.* untuk mendapatkan DNA dengan kemurnian yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk pengembangan bioteknologi tanaman Kepel *Stelechocarpus burahol (BL) Hook.f dan Th.*

B. Perumusan Masalah

Beberapa faktor yang mempengaruhi proses pengisolasian DNA ialah umur eksplan, berat sampel serta lama suhu inkubasi. Oleh karenanya, dapat ditarik rumusan masalah yaitu mengefektifkan penggunaan metode isolasi yang optimum,

berat sampel dan lama inkubasi pengisolasian DNA menggunakan daun muda dan tua pada tanaman Kepel *Stelechocarpus burahol* dari berbagai lokasi di Yogyakarta.

C. Tujuan Penelitian

Mendapatkan metode isolasi DNA yang optimum, berat sampel dan lama inkubasi untuk menghasilkan hasil isolasi DNA terbaik pada daun muda dan tua tanaman Kepel dari berbagai lokasi di Yogyakarta.

